

BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO DE GUAÇATONGA (*CASEARIA SYLVESTRIS* SW., SALICACEAE), UMA ESPÉCIE MEDICINAL

ARIANE S. DE OLIVEIRA¹; ROSELI B. TORRES²; MARCELO M. CAVALLARI³;
CECÍLIA A. F. PINTO-MAGLIO⁴; MARIA IMACULADA ZUCCHI⁵

Nº 10105

RESUMO

Casearia sylvestris é uma espécie que ocorre do México à Argentina em diferentes ambientes, muito utilizada na medicina popular. Suas propriedades antiofídica, antifúngica e anticancerígena têm sido comprovadas em estudos químicos e farmacológicos. São reconhecidas duas variedades, *C. sylvestris* var. *sylvestris* e *C. sylvestris* var. *lingua*, que diferem em aspectos morfológicos, químicos e nos ambientes preferenciais de ocorrência, mas existem indivíduos com características intermediárias que dificultam a sua separação. O objetivo deste trabalho foi avaliar aspectos da biologia da reprodução dessas variedades em uma área de mata ciliar e outra de cerrado, ambas no Parque Estadual de Porto Ferreira (SP, Brasil). Foram marcados cerca de 100 indivíduos e visitas regulares foram realizadas durante o período de floração e frutificação. Botões florais de seis árvores (duas de cada variedade e duas intermediárias) foram coletados para estimativa da viabilidade polínica, através de testes de coloração. Acompanhou-se o desenvolvimento de flores em frutos de seis indivíduos para verificar o pegamento de frutos. Observou-se sincronia no período de floração das variedades e as análises sugerem que o pólen da var. *lingua*, em geral, tem maior taxa de esterilidade, enquanto na var. *sylvestris* ocorre maior quantidade de pólen de tamanho regular e citoplasma corado. A produção de flores é semelhante nos indivíduos analisados, mas as observações de campo indicam maior taxa de pegamento de frutos na var. *lingua*. Os resultados indicam que existem diferenças no comportamento reprodutivo das variedades, porém mais estudos de campo e laboratório são necessários.

Abstract

Casearia sylvestris occurs from Mexico to Argentina in different environments, and is widely used in folk medicine. Chemical and pharmacological studies proved its

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas, IB/UNICAMP, Campinas-SP, ✉ ariane_saldanha@yahoo.com.br.

² Orientadora: Pesquisadora, Núcleo de P&D do Jardim Botânico IAC, Campinas-SP.

³ Co-orientador: Bolsista de pós-doutorado (FAPESP) do IAC, APTA - Pólo Centro Sul, Piracicaba-SP.

⁴ Colaboradora: Pesquisadora, Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais IAC, Campinas-SP.

⁵ Colaboradora: Pesquisadora, Centro de P&D de Recursos Genéticos IAC, APTA - Pólo Centro Sul, Piracicaba-SP.

properties as antiophidic, antifungal and anticancer. Two varieties are recognized, *C. sylvestris* var. *sylvestris* and *C. sylvestris* var. *lingua*, which differ in morphology, chemical and preferred environments of occurrence, but there are individuals with intermediate characteristics that hinder their separation. The aim of this study was to evaluate aspects of the reproductive biology of these varieties in an area of riparian forest and cerrado, both in the State Park of Porto Ferreira (São Paulo, Brazil). About 100 individuals were target and regular visits were made during the flowering and fruiting periods. Flower buds of six trees (two of each variety and two intermediate) were collected for estimation of pollen viability, by cytoplasmatic color tests. Flowers from six individuals were accompanied to check the fruit set development. Synchrony in flowering time of varieties was observed and the analysis suggests that pollen from var. *lingua*, in general, have higher rates of infertility, while in var. *sylvestris* there is larger amount of pollen of regular size and stained cytoplasm. The production of flowers is similar in the trees studied, but field observations indicate a higher rate of fruiting in the var. *lingua*. The results indicate differences in reproductive behavior of varieties, but more laboratory and field studies are needed.

Introdução

O Governo Federal, mediante o Decreto nº. 5.813, de 22 de junho de 2006, aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que visa incentivar o uso sustentável da biodiversidade brasileira para o desenvolvimento de medicamentos de origem vegetal. Diante disso, estudos como os de biologia reprodutiva de plantas nativas com propriedades medicinais são de suma importância, pois fornecem informações úteis para a conservação e o uso sustentável dessas espécies.

Casearia sylvestris Sw. (Salicaceae/Flacourtiaceae) conhecida popularmente como guaçatonga, erva-de-lagarto ou erva-de-bugre, dentre outros inúmeros nomes, é uma espécie de porte arbustivo a arbóreo, que ocorre do México até Argentina e Uruguai. No Brasil, há registros da espécie do Amapá ao Rio Grande do Sul (Sleumer 1980, Torres & Ramos 2007), nos mais diferentes ambientes. No estado de São Paulo é encontrada nas diversas formações dos domínios da Mata Atlântica e do Cerrado, em mata ciliar, restinga e em áreas degradadas (Torres & Ramos 2007). A espécie é muito utilizada na medicina popular, sendo relatados seus efeitos como anti-séptico, cicatrizante, anestésico tópico, antiúlcera, antiofídico, entre outros (Lorenzi & Matos 2002). Muitas pesquisas têm comprovado a eficiência farmacológica da espécie. Os trabalhos de Borges *et al.* (2001) sugerem que o extrato de *C. sylvestris* inibe proteases do veneno de cobras do gênero da jararaca (*Bothrops* spp.), confirmando as observações populares da ação da planta no organismo de lagartos que, quando

picados por cobras, consomem as folhas da planta, origem do nome popular “erva-de-lagarto” (Correa 1975). Esteves *et al.* (2005) demonstraram que o óleo de suas folhas têm atividade antiinflamatória e anti-úlceras. Apesar do potencial farmacológico do extrato da planta, o principal interesse comercial é seu efeito como anti-cancerígeno. Itokawa *et al.* (1988) descobriram seus diterpenos clorodânicos e estudaram suas atividades antitumorais em ratos, patenteando esses compostos com o nome de casearinas. Oberlies *et al.* (2002) estudaram outros compostos presentes em seu extrato, denominados casearvestrinas, que possuem efeitos citotóxicos sobre linhagens de células cancerígenas e fungos. Além do interesse farmacológico, *C. sylvestris* tem relevância ecológica por ser uma espécie freqüentemente encontrada em estudos fitossociológicos (Berg & Oliveira-Filho 2000, Dias *et al.* 1998, Felfili *et al.* 2002). Seus frutos servem de alimento para diversas aves (Torres & Yamamoto 1986) e, ainda, tem importante papel na regeneração natural de áreas degradadas, sendo considerada uma espécie da fase inicial da sucessão.

Na revisão do gênero para a Flora Neotropica, Sleumer (1980) distingue duas variedades da espécie: *C. sylvestris* var. *sylvestris* e *C. sylvestris* Sw. var. *lingua* (Cambess.) Eichler, com base nas diferenças da morfologia das folhas, conspicuidade das nervuras secundárias e ambiente de ocorrência preferencial: var. *lingua*, em cerrados, e var. *sylvestris* em formação florestal. Cavallari (2008) estudou a estrutura genética de nove populações da espécie e, entre outros aspectos, verificou que existem diferenças genéticas significativas entre as variedades. Uma análise genética com abordagem bayesiana realizada pelo autor agrupou os 376 indivíduos estudados em dois grandes grupos que correspondem às duas variedades. Isto é, a análise genética apresentou grande concordância com a classificação realizada com base na morfologia externa. O autor observou ainda que há provavelmente uma duplicação no genoma da espécie, notadamente na var. *lingua*, verificando ainda, por cromatografia líquida de alta eficiência, que as variedades diferem quanto à sua composição química.

Este trabalho objetivou estudar a biologia floral e a reprodução de *Casearia sylvestris*, a fim de melhor compreender seu comportamento reprodutivo, e inferir sobre as forças evolutivas que determinam as divergências entre suas variedades, fornecendo informações úteis para conservação e uso sustentável dessa espécie medicinal.

Material e Métodos

O estudo foi realizado numa população onde ocorrem as duas variedades e possíveis híbridos da espécie, no Parque Estadual de Porto Ferreira (PEPF), zona de transição

entre o Cerrado e a Floresta Estacional Semidecídua. O PEPF localiza-se no município de Porto Ferreira, centro-norte do estado de São Paulo, entre as coordenadas UTM (zona 23) 7.579.500 a 7.583.500 e 245.000 a 251.000, ocupando uma área de aproximadamente 611,55 ha (Rossi *et al.* 2005). Segundo a classificação de Köppen, o clima na região é do tipo Cwa, mesotérmico de inverno seco (abril a setembro), com temperaturas inferiores a 18°C no inverno e superiores a 22°C no verão, e temperatura média anual de 20,4°C (Rossi *et al.* 2005, Tabanez 2003).

Para verificar a existência ou não de assincronia na floração das variedades, foram marcados 112 indivíduos (das duas variedades e intermediários), que foram acompanhados mensalmente, no período de agosto de 2009 a junho de 2010. Seis indivíduos (dois de cada variedade e dois com características morfológicas intermediárias) foram observados quinzenalmente de julho a outubro de 2009 e o número de inflorescências por ramo, a quantidade de flores por inflorescência e a eficiência reprodutiva (contagem de frutos formados a partir das flores - pegamento de frutos) foram estimados. Frutos foram coletados e as sementes foram postas para germinar em vermiculita na estufa do Núcleo de P&D do Jardim Botânico IAC. Foram observadas larvas (possivelmente parasitas) nos botões florais e estas foram fixadas em álcool etílico 70% para identificação desses animais no Centro de Fitossanidade – IAC. Botões florais de seis indivíduos (dois de cada variedade e dois com características morfológicas intermediárias) foram coletados para uma estimativa da viabilidade polínica através de testes de coloração e fixados em álcool etílico:ácido acético (3:1). Lâminas foram preparadas a partir da maceração de anteras e coradas com o corante Alexander. Segmentos laterais das raízes foram coletados com o auxílio de uma enxada de mão para preparação de estacas radiculares. Estacas com cerca de 8cm de comprimento foram feitas e plantadas a uma profundidade de cerca de 1cm em bandejas de plástico contendo vermiculita. As bandejas foram mantidas na estufa do Núcleo de P&D do Jardim Botânico do IAC. Foi acompanhada a emergência de brotos dessas raízes gemíferas, que foram removidos com pinça e fixados em paradiclorobenzeno (PDB) por 1h e posteriormente acondicionados em potes contendo álcool etílico:ácido acético (3:1). Lâminas foram preparadas com essas gemas caulinares e coradas com carmim acético para visualização de células em divisão para contagem cromossômica.

Resultados e Discussão

A floração iniciou-se em julho de 2009, período em que pequenos botões florais podiam ser observados. O acompanhamento mensal dos eventos florais dos indivíduos marcados sugere que a floração das variedades é sincrônica, ou seja,

aparentemente elas florescem na mesma época. Porém, mais estudos devem ser realizados para confirmação destes dados, pois pequenas diferenças temporais (manhã/tarde) não puderam ser acompanhadas. O acompanhamento quinzenal de alguns indivíduos indica que, provavelmente, *C. sylvestris* var. *lingua* forma mais frutos de aparência viável que *C. sylvestris* var. *sylvestris*. Análises estatísticas estão sendo concluídas para confirmar esta informação. As sementes colocadas para germinar em vermiculita apodreceram antes de germinar. As larvas coletadas foram identificadas como sendo das ordens Lepidoptera e Hymenoptera, esta última provavelmente endoparasita de Lepidoptera. Não foi possível a identificação em nível mais detalhado devido ao tamanho reduzido dos animais. As análises das lâminas dos grãos de pólen sugerem que o pólen da var. *lingua*, em geral, tem maior taxa de esterilidade (grãos de diferentes tamanhos, vazios e não corados ou pouco corados) decorrente, provavelmente, de irregularidades na divisão meiótica. Na var. *sylvestris* observou-se maior quantidade de pólen de tamanho regular e citoplasma corado. Procurou-se observar células mãe-de-pólen nas lâminas preparadas com essas amostras de botões florais, para a contagem do número cromossômico, porém tais estruturas não foram observadas. As lâminas com tecido meristemático das raízes gemíferas estão em fase de preparação. Assim, até o momento, não foram observadas células em divisão, pois os materiais coletados continham somente tecidos já diferenciados.

Conclusão

Os resultados obtidos sugerem diferenças no comportamento reprodutivo das duas variedades de *C. sylvestris*. Mais pesquisas devem ser realizadas a fim de melhor compreender os mecanismos biológicos que regem os eventos reprodutivos desta espécie, para que esta seja melhor conservada e seja utilizada de maneira sustentável, dado o grande interesse farmacológico que desperta.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida à Ariane Saldanha de Oliveira. À FAPESP pelo auxílio para realização dos trabalhos de campo. Ao amigo José de Freitas Benedito pelo auxílio nos trabalhos de campo. Aos funcionários do Parque Estadual de Porto Ferreira por todo o apoio recebido. Ao pesquisador Luís Carlos Bernacci que gentilmente permitiu a utilização da estufa, assim como auxiliou no plantio das estacas. Ao pesquisador Édson Teixeira Possidônio, do Centro de Fitossanidade do IAC, pela identificação das larvas. A primeira autora agradece a amizade e o companheirismo dos 'amigos da botânica'.

Referências Bibliográficas

- BERG, E. VAN DEN & OLIVEIRA-FILHO, A.T. Composição florística e estrutura fitossociológica de uma floresta ripária em Itutinga, MG, e comparação com outras áreas. **Revista Brasileira de Botânica**. Vol. 23 n° 3, p. 231-253. 2000.
- BORGES, M.H.; SOARES, V.M.; RODRIGUES, V.M.; OLIVEIRA, F.; FRANSCHESCHI, A.M.; RUCAVADO, A.; GIGLIO, J.R. & HOMSI-BRANDENBURGO, M.I. Neutralization of proteases from *Bothrops* snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon**. Vol. 39, p. 1863-1869. 2001.
- BRASIL. Decreto no. 5.813, de 22/06/2006. **Ministério da Saúde 2006**. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/Decreto_Fito.pdf>. Acesso: junho de 2010.
- CAVALLARI, M.M. **Variabilidade genética e química entre e dentro de populações de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) no Estado de São Paulo**. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu. 2008.
- CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das espécies cultivadas**. Brasília: Ministério da Agricultura – IBDF. Vol. 3. p. 514-516. 1975.
- DIAS, M.C.; VIEIRA, A.O.S.; NAKAJIMA, J.N.; PIMENTA, J.A. & LOBO, P.C. Composição florística e fitossociologia do componente arbóreo das florestas ciliares do rio Iapó, na bacia do rio Tibagi, Tibagi, PR. **Revista Brasileira de Botânica**. Vol. 21 n° 2, p. 183-195. 1998.
- ESTEVES, I; SOUZA, I.R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L.G.V.; SANTOS, L.S.; SERTIE, J.A.A.; PERAZZO, F.F.; LIMA, L.M.; SCHNEEDORF, J.M.; BASTOS, J.K. & CARVALHO, J.C.T. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 101, p. 191–196. 2005.
- FELFILI, J.M.; NOGUEIRA, P.E.; JÚNIOR, M.C.; MARIMON, B.S. & DELITTI, W.B.C. Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa – MT. **Acta Botanica Brasilica**. Vol. 16 n° 1, p. 103-112. 2002.
- ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; TAKEIYA, K.; WATANABE, K. & OBATA, E. Antitumor principles from *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), structure elucidation of new clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. Vol. 36, p. 1585-1588. 1988.
- LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil – nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum. 2002.
- OBERLIES, N.H.; BURGESS, J.P.; NAVARRO, A.H.; PINOS, R.E.; FAIRCHILD, C.R.; PETERSON, R.W.; SOEJARTO, D.D.; FARNSWORTH, N.R.; KINGHORN, A.D.; WANI, M.C. & WALL, M.E. Novel Bioactive Clerodane Diterpenoids from the Leaves and Twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**. Vol. 65 n° 2, p. 95-99. 2002.
- PASSOLO, H. **As flacourtiáceas antilepróticas**. São Paulo: Diretoria de Publicidade Agrícola & Secretaria de Cultura, Indústria e Comércio de São Paulo. 1945.
- ROSSI, M.; MATTOS, I.F.A.; COELHO, R.M.; MENK, J.R.F.; ROCHA, F.T.; PFEIFER, R.M. & DEMARIA, I.C. Relação solos/vegetação em área natural no Parque Estadual de Porto Ferreira, São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**. Vol 17 n° 1, p. 45-61. 2005.
- SLEUMER, H.O. Flacourtiaceae. **Flora Neotropica**. Monogr. 22. New York: The New York Botanical Garden. 1980.
- TABANEZ, M.F. **Plano de Manejo do Parque Estadual Porto Ferreira**. 2003. Disponível em: <http://www.iflorestal.sp.gov.br/Plano_de_manejo/index.asp> Acesso: junho de 2010.
- TORRES, R.B. & RAMOS, E. Flacourtiaceae. In M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, T.S. Melhem & A.M. Giulietti (eds.), **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, FAPESP. Vol. 5. 2007.